



## 海洋マクロリド天然物の全合成、構造改訂および構造活性相関研究

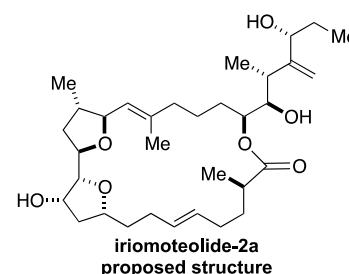
著者	坂本 溪太
号	16
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	生博第366号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/00126111">http://hdl.handle.net/10097/00126111</a>

	さかもと けいた
氏 名（本籍地）	坂本 溪太
学 位 の 種 類	博士（生命科学）
学 位 記 番 号	生博第 366 号
学位授与年月日	平成 3 1 年 3 月 2 7 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 ， 専 攻	東北大学大学院生命科学研究科 （博士課程）分子生命科学専攻
論 文 題 目	海洋マクロリド天然物の全合成、構造改訂および 構造活性相関研究
博士論文審査委員	（主査）教 授 有本 博一 教 授 田中 良和 准教授 小川 智久

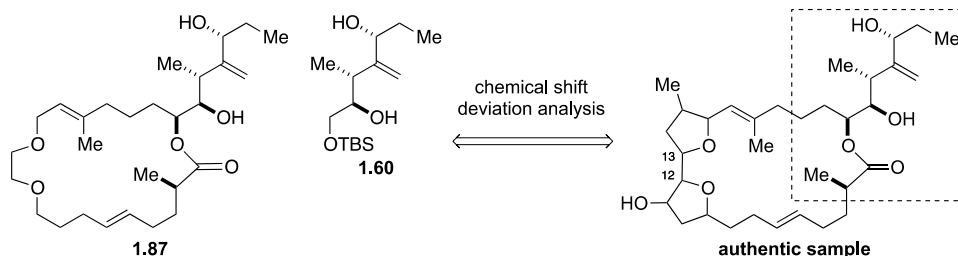
## 論文内容の要旨

本論文は、2つの海洋マクロリド天然物を対象にした全合成と構造改訂および構造活性相関研究について記載したものである。

第1章では、イリオモテオリド-2aの全合成と構造改訂および構造活性相関研究について記載した。イリオモテオリド-2aは、沖縄県西表島の海底砂泥に生息する渦鞭藻 *Amphidinium* 種の培養藻体が生産する新規23員環マクロリド天然物である。本天然物は大環状骨格中に2つの連続するテトラヒドロフラン環や不斉中心の連続した側鎖部分構造をもち、全合成の標的分子として挑戦的である。また本天然物は数種の培養がん細胞に対し極低濃度での増殖抑制活性を示し、白血病モデルマウスに対して、抗腫瘍活性を示すことが報告されていた。このことから本天然物は医薬品や薬理試薬のリード化合物としても期待ができると考えられ、当研究室では全合成研究が行われてきた。



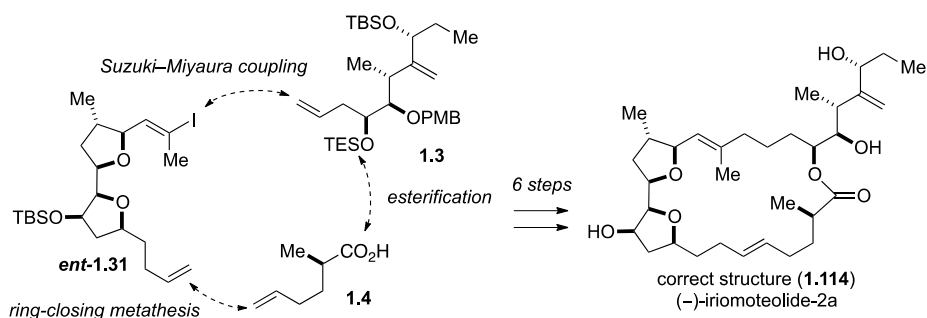
先行研究により、イリオモテオリド-2aの提出構造式は再検討が必要であることが判明していたため、筆者は本天然物の真の構造式を全合成により解明することとした。まず側鎖部分構造に着目し、複数の単純化モデル化合物の合成を行い、天然物のNMRデータと詳細な比較を行った。合成品と天然標品のNMRデータの比較からモデル化合物**1.60**が天然標品の当該箇所と最も良い一致を示した。また、大環状骨格を簡略化したモデル化合物**1.87**も側鎖部分のほぼ全ての領域において、天然標品と誤差範囲内でNMRデータが一致したことから、本天然物の側鎖部分の立体配置はモデル化合物**1.60**および**1.87**と同一であると結論付けた。



次に筆者は大環状骨格中に連続する2つのテトラヒドロフラン環側鎖部分に注目した。C12位とC13位の相対配置が *erythro* 配置である立体異性体は、天然標品のNMRデータと比較的良好一致を示す傾向が見られていた為、当該箇所の相対配置が *erythro* 配置の立体異性体**1.114**を候補化合物として選出した。この候補化合物を鈴木-宮浦反応、山口エステル化、閉環メタセシス反応を鍵工程として収束的に全合成した結果、<sup>1</sup>H および <sup>13</sup>C NMR データが天然標品のものと誤差範囲内で一致することが明らかとなり、本天然物の正しい相対配置が構造式**1.114**で示されると結論付けた。

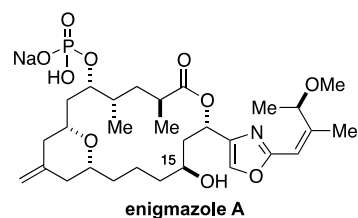
続いて本天然物の絶対配置を確認するため合成品**1.114**と天然標品の比旋光度の比較を行った。しかし、その値は絶対値および符号が明確に異なっており、比旋光度の比較による絶対配置の決定は困難であった。そこで筆者は**1.114**の光学異性体を別途調製し、キラルHPLCによ

る絶対配置決定を試みた。高知大学の津田正史教授にご恵与いただいた天然標品と合成した両光学異性体を東京大学の井上将行教授、伊藤寛晃博士に依頼し、キラル HPLC 分析していただいた。その結果、(-)-体の合成品 **1.114** の保持時間が天然標品のそれと完全に一致することが明らかとなり、本天然物の絶対配置が決定できた。

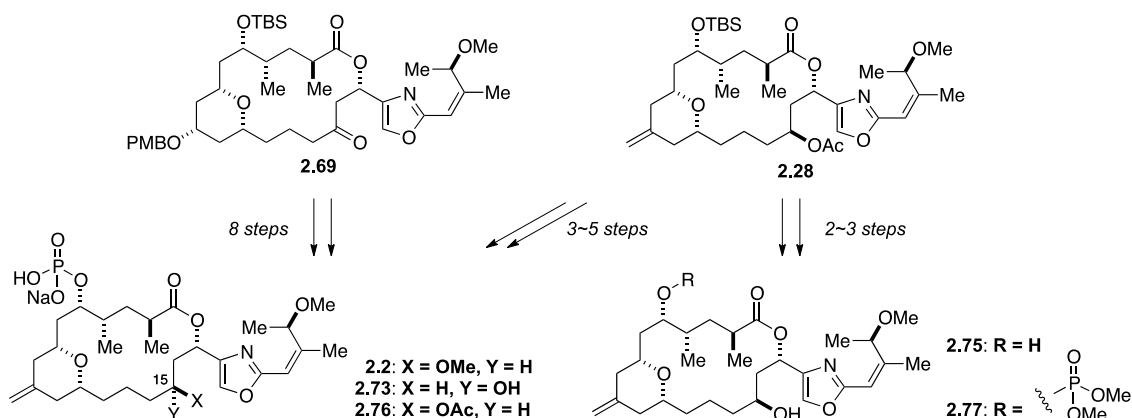


合成品のイリオモテオリド-2a (**1.114**) および各種の立体異性体の細胞増殖抑制活性の評価を慶應大学の末永聖武教授、岩崎有紘博士ならびに中央大学の不破春彦教授に依頼した。残念ながら、報告されていた濃度よりも約 1000 倍活性が低いことが明らかとなり、他の立体異性体も同程度の増殖抑制活性であることが判明した。これらの一連の研究から天然物を基盤とした新規の医薬リード化合物や薬理試薬の探索において、全合成による構造の確認や合成品を用いた生物活性の再評価が依然として不可欠であることを実証した。

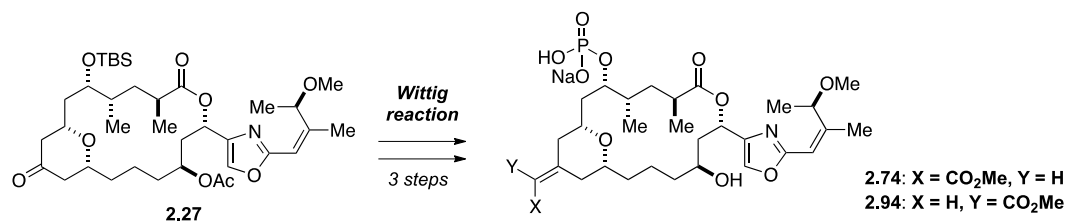
第 2 章では、リン酸含有マクロリド天然物エニグマゾール A 類縁体合成と生物活性評価を行った。エニグマゾール A はパプア・ニューギニア諸島に生息する海綿動物 *Cinachyrella enigmatica* から単離・構造決定された天然物であり、NCI-60 がん細胞パネルスクリーニングにおいて多様ながん細胞に対して細胞毒性を示すことが報告されている。本天然物はオキサゾール環とリン酸で修飾された新規マクロリド骨格をもつことから、その構造の新規性と生物活性が注目を集め、これまで当研究室を含めた 4 グループで全合成が達成された。しかし合成標品や構造類縁体の生物活性の評価は一切報告されておらず、構造活性相関の知見は乏しい状態にあった。



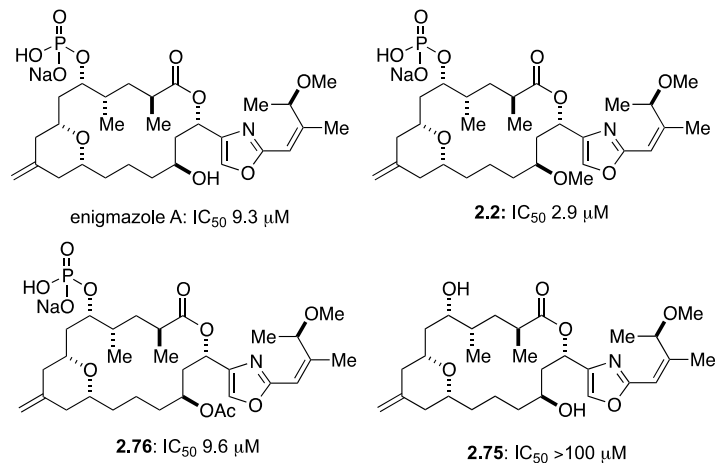
筆者は当研究室の全合成中間体を起点としたエニグマゾール A 構造類縁体合成を行い、構造活性相関の知見を集積することを目指した。まず C15 位に着目しヒドロキシ基修飾体や立体異性体の合成を計画した。全合成法を基盤とした官能基変換を行うことで、C15 位のエピ体 **2.73** やアセチル体 **2.76**、メチルエーテル体 **2.2** を中間体 **2.28** や **2.69** から数工程の変換を経て合成することに成功した。中間体 **2.28** からは本天然物の特徴的な官能基であるリン酸基の構造改変体も調製し、脱リン酸化体 **2.75** やリン酸メチルエステル体 **2.77** を合成することに成功した。



中間体 **2.27** からはテトラヒドロピラン環 4 位の構造改変体の誘導を試みた。一般的なキラルリン酸を用いた Horner–Wadsworth–Emmons 反応では低収率でしか目的物を得られなかったが、安定イリドを用いた Wittig 反応で目的の官能基変換が可能であることを見出した。立体異性体をそれぞれ分離しリン酸エステル化と保護基の除去を行うことで、構造改変体 **2.74** および **2.94** の合成を完了した。



合成品のエニグマゾール A および一部の類縁体の細胞増殖抑制活性を中央大学の不破春彦教授に依頼し評価していただいた。WST-8 アッセイによる細胞増殖抑制活性を評価していただいたところエニグマゾール A 合成標品はヒト肺がん A549 細胞に対して IC<sub>50</sub> 9.3 μM で活性を示すことが明らかとなり、合成品でも天然標品と同等の生物活性があることを確認した。ヒドロキシ基の修飾体 **2.2** および **2.76** でも同等以上の生物活性が確認されたが、脱リン酸化体 **2.75** は 100 μM でも増殖抑制活性が観測されなかった。今後は他の構造類縁体についても細胞増殖抑制活性評価を行い、本天然物の構造活性相関を明らかにしていく予定である。



## 論文審査結果の要旨

海洋生物は、陸上とは異なるユニークな化合物群を産生することから、生物活性物質探索の資源として注目されている。坂本溪太氏提出の論文は二章からなっており、第1章では、海洋天然物イリオモテリド-2aの全合成と構造改訂について論じている。序論として天然物化学の構造決定に用いられる機器分析法の現状をまとめ、構造決定の誤りが起きた事例について解析している。天然物の化学構造を最終的に確認する手段として全合成は成果を挙げてきた。海洋天然物イリオモテリド-2aの例では提出構造の全合成の結果、天然物標品と合成された化合物が一致せず、立体配置の一部に差異があることが判明した。このような研究背景をもとに、本論では構造を簡略したモデル化合物と天然物の $^1\text{H}$  NMR 化学シフトのずれを慎重に解析し、天然物と一致する可能性のある6種の立体異性体を順次合成して比較を行った。その結果、天然標品と $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ -NMR がよい一致を示す立体異性体を割り出すことに成功した。続いて、キラルカラムを用いたLC-MS分析により合成した異性体が、天然物と同一の絶対立体配置を持つことを確認した。イリオモテリド-2aは強い細胞毒性を持つことが報告されており、抗腫瘍薬設計のヒントとして注目されてきた。しかし、合成した化合物や、その立体異性体はいずれも極めて弱い毒性しか示さなかった。

第2章では、海洋天然物エニグマゾール A 類縁体の化学合成について論じている。序論として構造決定の経緯や他の研究者によって達成された全合成についてまとめている。著者は、エニグマゾール類縁体が特定の細胞株に選択毒性を示すと考え、本論において合成に取り組んだ。15-エピ-エニグマゾール A など数種を合成したところ、天然物と同等、または、やや強い活性を示す誘導体を見出した。このとき、エニグマゾールのリン酸基部分は活性に必須であることも明らかとなった。

坂本氏は複雑な構造を有する生物活性物質を最先端の有機合成手法を用いて構築し、機器分析法では困難な重要天然物の化学構造確定を成し遂げた。さらに天然物をもとにした誘導体合成に道を拓き創薬展開の基礎を築いた。このような成果は、坂本氏が自立して研究活動を行うに必要な高度の研究能力と学識を有することを示している。したがって、坂本溪太氏提出の論文は、博士（生命科学）の博士論文として合格と認める。